

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ, МОЛОДІ ТА СПОРТУ УКРАЇНИ**

**ХАРКІВСЬКА НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ  
МІСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА**

**МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ**

до проведення лабораторних і практичних занять  
з дисципліни

**«МІКРОБІОЛОГІЯ»**

*(для студентів 1 - 2 курсів денної та заочної форм навчання  
освітньо-кваліфікаційного рівня бакалавр напрямку підготовки  
6.140101 «Готельно-ресторанна справа»)*

**Харків  
ХНАМГ  
2012**

Методичні вказівки до проведення лабораторних і практичних занять з дисципліни «МІКРОБІОЛОГІЯ» (для студентів 1 - 2 курсів денної та заочної форм навчання освітньо-кваліфікаційного рівня бакалавр напряму підготовки 6.140101 «Готельно-ресторанна справа») / Харк. нац. акад. міськ. госп-ва; уклад.: О. Г. Шатровський. – Х. : ХНАМГ, 2012. – 24 с.

Укладач **О. Г. Шатровський**

Методичні вказівки побудовані за вимогами кредитно-модульної системи організації навчального процесу

Рецензент: проф. Ф. В. Стольберг

Затверджено на засіданні кафедри інженерної екології міст, протокол № 2 від 09.09.2011 р.

## ЗМІСТ

1. МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДО ПРАКТИЧНИХ ЗАНЯТЬ З ДИСЦИПЛІНИ «МІКРОБІОЛОГІЯ» .....	4
МОДУЛЬ 1. МІКРООРГАНІЗМИ У ВИРОБНИЦТВІ ТА ЗБЕРІГАННІ ХАРЧОВОЇ ПРОДУКЦІЇ .....	4
ЗМ 1.1 ОРГАНІЗАЦІЯ ТА ЖИТТЄДІЯЛЬНІСТЬ БАКТЕРІЙ, ДРІЖДЖІВ І ПЛІСЕНЕВИХ ГРИБІВ .....	4
1. Історія розвитку мікробіології .....	4
2. Особливості будови та життєдіяльності мікроорганізмів .....	4
3. Принципи класифікації мікроорганізмів .....	4
4. Мікробіологічні процеси в промисловості .....	4
ЗМ 1.2. МІКРООРГАНІЗМИ У СИРОВИНІ ТА ГОТОВИХ ПРОДУКТАХ ХАРЧУВАННЯ .....	5
5. Мікробіологія м'ясої сировини та продуктів соління і зберігання в холодильнику .....	5
6. Мікробіологія ковбасних виробів і м'ясних консервів: основні групи мікроорганізмів .....	5
7. Мікробіологія яєць та яйцепродуктів .....	5
8. Мікробіологія молока та молочних продуктів .....	5
9. Мікробіологія зерна та хлібобулочних виробів .....	5
10. Мікробіологія плодів і овочів .....	6
ЗМ 1.3. МІКРООРГАНІЗМИ У ВИРОБНИЦТВІ ХАРЧОВОЇ ПРОДУКЦІЇ .....	6
11. Мікроорганізми у виробництві сиру .....	6
12. Мікроорганізми у виробництві пива .....	6
13. Мікроорганізми у виробництві вина .....	6
14. Мікроорганізми у виробництві м'ясних продуктів .....	6
15. Основи утворення тіста, випечених напівфабрикатів і виробів .....	7
16. Біотехнології – виробництво майбутнього .....	7
МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДО ЛАБОРАТОРНИХ ЗАНЯТЬ ІЗ ДИСЦИПЛІНИ «МІКРОБІОЛОГІЯ» .....	9
Лабораторна робота 1 .....	9
Лабораторна робота 2 .....	9
Лабораторна робота 3 .....	9
Лабораторна робота 4 .....	10
Лабораторна робота 5 .....	10
Лабораторна робота 6 .....	11
Лабораторна робота 7 .....	11
Лабораторна робота 8 .....	12
Додаток А. Будова мікроскопу .....	14
Правила роботи з мікроскопом .....	16
Додаток Б. Дослідження морфології бактерій .....	18
Додаток В. Дослідження морфології дріжджів .....	21
Додаток Д. Дослідження морфології цвілевих грибів .....	23

# **1. МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДО ПРАКТИЧНИХ ЗАНЯТЬ З ДИСЦИПЛІНИ «МІКРОБІОЛОГІЯ»**

Питання, що виносяться на практичні заняття:

## **МОДУЛЬ 1. МІКРООРГАНІЗМИ У ВИРОБНИЦТВІ ТА ЗБЕРІГАННІ ХАРЧОВОЇ ПРОДУКЦІЇ**

### **ЗМ 1.1 ОРГАНІЗАЦІЯ ТА ЖИТТЄДІЯЛЬНІСТЬ БАКТЕРІЙ, ДРІЖДЖІВ І ПЛІСЕНЕВИХ ГРИБІВ**

#### **1. Історія розвитку мікробіології**

1. Значення мікробіології в умовах сучасного виробництва й споживання
2. Основні етапи розвитку мікробіології, вірусології і імунології
3. Перспективи розвитку мікробіології

#### **2. Особливості будови та життєдіяльності мікроорганізмів**

1. Об'єкти вивчення в мікробіології
2. Основні властивості живих організмів
3. Клітинна організація мікроорганізмів
4. Особливості зростання бактеріальних популяцій

#### **3. Принципи класифікації мікроорганізмів**

1. Основні поняття щодо класифікації мікроорганізмів
2. Основи класифікації бактерій

#### **4. Мікробіологічні процеси в промисловості**

1. Мікробіологічна промисловість:
  - а) створення середовища,
  - б) стерилізація,
  - в) отримання культури,
  - г) зростання в промисловому ферментері (біореакторі),
  - д) виділення і очищення продуктів,
  - е) переробка і ліквідація відходів ферментації.
2. Промислові мікробіологічні процеси:
  - а) вирощування мікробної біомаси;
  - б) отримання продуктів метаболізму мікроорганізмів;
  - в) отримання ферментів мікробного походження;
  - г) отримання рекомбінантних продуктів;
  - д) біотрансформація речовин.

## **ЗМ 1.2. МІКРООРГАНІЗМИ У СИРОВИНІ ТА ГОТОВИХ ПРОДУКТАХ ХАРЧУВАННЯ**

### **5. Мікробіологія м'ясної сировини та продуктів соління і зберігання в холодильнику**

1. Осіменіння м'яса тварин мікроорганізмами.
2. Осіменіння м'яса птиці мікроорганізмами.
3. Ветеринарно-санітарні вимоги до цехів післязабійного вмісту, забою худоби і оброблення туш.
4. Мікрофлора м'яса і м'ясопродуктів при холодильному зберіганні, засолі й сушці в умовах вакууму:
  - а) зміна мікрофлори м'яса при холодильному зберіганні;
  - б) зміна мікрофлори м'яса і м'ясопродуктів при засолі;
  - в) зміна мікрофлори м'яса і м'ясопродуктів при сушці в умовах вакууму;
  - г) види псування м'яса.

### **6. Мікробіологія ковбасних виробів і м'ясних консервів: основні групи мікроорганізмів**

1. Осіменіння ковбасного фаршу мікроорганізмами.
2. Вплив решткової мікрофлори на якість ковбасних виробів при зберіганні.
3. Санітарно-гігієнічні вимоги при виробництві ковбасних виробів.
4. Джерела мікрофлори консервованих продуктів.
5. Вплив решткової мікрофлори на якість консервів.
6. Санітарно-гігієнічні вимоги до виробництва консервів.

### **7. Мікробіологія яєць та яйцепродуктів**

1. Осіменіння яєць мікроорганізмами.
2. Розвиток мікроорганізмів в яйці при зберіганні.
3. Мікрофлора яйцепродуктів.
4. Санітарно-гігієнічні вимоги при виробництві яєць і яйцепродуктів.

### **8. Мікробіологія молока та молочних продуктів**

1. Мікробіологія молока:
  - а) мікробіологія сировини;
  - б) мікробіологія згущеного і сухого молока;
  - в) мікробіологія кисломолочних продуктів;
  - г) мікробіологія сирів;
2. Псування жирів.
3. Псування масла.

### **9. Мікробіологія зерна та хлібобулочних виробів**

1. Мікробіологія зерна.
2. Мікробіологія сировини.
3. Мікробіологія готового хлібу.

## **10. Мікробіологія плодів і овочів**

1. Класифікація овочевих культур.
2. Класифікація мікроорганізмів плодів і овочів.
3. Хвороби плодів і овочів, що викликаються мікроорганізмами.
4. Класифікація хвороб плодів і овочів.
5. Зовнішні ознаки захворювань.
6. Мікробіологія квашених (солоних, мочених) овочів і плодів.

## **ЗМ 1.3. МІКРООРГАНІЗМИ У ВИРОБНИЦТВІ ХАРЧОВОЇ ПРОДУКЦІЇ**

### **11. Мікроорганізми у виробництві сиру**

1. Технологія виробництва сиру.
2. Особливості виробництва основних різновидів сиру.
3. Джерела надходження мікрофлори в сир.

### **12. Мікроорганізми у виробництві пива**

1. Етапи виробництва пива.
2. Зачаття пива.
3. Затирання.
4. Фільтрування затору.
5. Кип'ятіння сусла з хмелем.
6. Освітлювання пивного сусла.
7. Охолодження сусла.
8. Бродіння.
9. Останні технологічні етапи.

### **13. Мікроорганізми у виробництві вина**

1. Загальні відомості про виноробство.
2. Класифікація вин за кольором, призначенням, способом приготування і складом.
3. Характеристики типів вин.
4. Обробка мезги.
5. Освітлювання і обробка сусла.
6. Бродіння сусла.
7. Бродіння мезги.
8. Підброджування сусла і мезги.
9. Спиртування сусла і мезги.
10. Переробка відходів виноробства.

### **14. Мікроорганізми у виробництві м'ясних продуктів**

1. Ризики потрапляння мікроорганізмів до продукту на різних етапах виробництва.
2. Зміна мікрофлори фаршу при виробленні варених і напівкопчених ковбасних виробів.

3. Зміна мікрофлори фаршу при виробленні копчених ковбас.
4. Ризики потрапляння мікроорганізмів до продукту на різних етапах виробництва м'ясних консервів.

### **15. Основи утворення тіста, випечених напівфабрикатів і виробів**

1. Основи технології хлібопечення.
2. Вимоги до компонентів тіста.
3. Особливості технології випічки житнього хліба.
4. Вимоги до дотримання умов виробництва при отриманні чорного хліба.

### **16. Біотехнології – виробництво майбутнього**

1. Субстрати для культивування мікроорганізмів з метою отримання білка.
2. Технологія отримання мікробних ліпідів.
3. Мікроорганізми – продуценти ліпідів.
4. Живильне середовище для отримання ліпідів.

#### **Основні джерела:**

1. Закон України «Про безпечність та якість харчових продуктів» // ВВР. – 1998. – № 19. – Ст. 98. – Зі змінами і доповненнями 2001-2007 рр.
2. Наказ Міністерства економіки України «Про затвердження Методичних рекомендацій з забезпечення якості та безпеки товарів і послуг підприємств ресторанного господарства» // Головбух. – Серпень 2008. – № 47 (598).
3. Шатровський О.Г. Конспект лекцій із навчальної дисципліни «Мікробіологія» (для студентів 1 курсу денної та 2 курсу заочної форм навчання освітньо-кваліфікаційного рівня бакалавр напряму підготовки 6.140101 ГОТ / Харк. нац. акад. міськ. госп-ва; уклад.: Шатровський О. Г. – Х.: ХНАМГ, 2011. – 134 с.

#### **Додаткові джерела:**

1. Власенко В. В. та ін. Мікробіологія м'яса та м'ясопродуктів (практикум): Навч. посібник. / В. В. Власенко, В. Г. Скибіцький, І. Г. Власенко, Ф.Ж. Ібатулліна, Г. В. Козловська, М. В. Мельник. – Вінниця: «Едельвейс і К», 2008. – 308 с.
2. Гудзь С. П. та ін. Мікробіологія: підручник: (для студентів вищих навчальних закладів) / С. П. Гудзь, С. О. Гнатуш, І. С. Білінська. – Львів: Видавничий центр ЛНУ імені Івана Франка, 2009. – 360 с.
3. Демченко А. В. та ін. Ветеринарна мікробіологія та імунологія / А. В. Демченко, В. А. Бортнічук, В. Г. Скибіцький, В. М. Апатенко. – К.: Урожай, 1996. – 368 с.
4. Карпов О. В. Сучасні напрями в мікробіології. Конспект лекцій. / О. В. Карпов. – К.: НУХТ, 2004. – 84 с.
5. Клещев Н. С. и др. Общая промышленная биотехнология: Технология бродильных производств: Учеб. пособие / Н. С. Клещев, М. П. Бенько. – Х.: НТУ «ХПИ», 2007. – 200 с.

6. Климнюк С. І. та ін. Практична мікробіологія: Посібник / С. І. Климнюк, І. О. Ситник, М. С. Творко, В. П. Широкобоков. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2004. – 440 с.
7. Кузнецова Л. С., Сиданова М. Ю. Технология приготовления мучных кондитерских изделий: Учебн. для студ. учреждений сред. проф. образования. / Л. С. Кузнецова, М. Ю. Сиданова. – М.: Мастерство, 2002. – 320 с.
8. Нетрусов А. И. и др. Микробиология: Учебник для студ. высш. учеб. заведений / А. И. Нетрусов, И. Б. Котова. – М.: Издательский центр «Академия», 2006. – 352 с.
9. Пирог Т. П. Загальна мікробіологія: Підручник. / Т. П. Пирог. – К.: НУХТ, 2004. – 472 с.
10. Скибіцький В. Г. та ін. Мікробіологія молока та молочних продуктів: Підручник / В. Г. Скибіцький, В. В. Власенко, І. Г. Власенко, Ф. Ж. Ібатулліна, Г. В. Козловська, А. М. Соломон, М. В. Мельник. – Вінниця: «Едельвейс і К», 2008. – 412 с.
11. Теппер Е. З. та ін. Практикум по микробиологии / Е. З. Теппер, В. К. Шкильникова, Г. И. Переверзева. – М.: Колос, 1979. – 216 с.
12. Харченко С. М. Мікробіологія: навч. посібник / С. М. Харченко. – К.: «Сільгоспосвіта», 1994. – 349 с.
13. Шлегель Г. Общая микробиология / Пер. с нем. / Г. Шлегель. – М.: Мир, 1987. – 567 с.



# **Методичні вказівки до лабораторних занять із дисципліни «Мікробіологія»**

## **Лабораторна робота 1**

**Тема:** «Організація мікробіологічної лабораторії. Основи мікроскопічної техніки. Фіксовані і живі препарати. Морфологія, фізіологія і біохімічні процеси мікроорганізмів»

Знайомляться з організацією і устаткуванням мікробіологічної лабораторії. Розбирають будову біологічного мікроскопа і техніку мікроскопування мікроорганізмів за його допомогою. Кожен студент освоює прийоми мікроскопування учбових зразків, самостійно проводить забарвлення мазків живих мікроорганізмів простими і складними методами, робить фіксовані і живі препарати. З'ясовує морфологічні, фізіологічні і біохімічні особливості мікроорганізмів. Індивідуально захищає теоретичну частину теми заняття, викладач оцінює якість зроблених мазків, студент демонструє техніку мікроскопування з аналізом і характеристикою мікроорганізмів.

## **Лабораторна робота 2**

**Тема:** «Чинники зовнішнього середовища, що впливають на розвиток мікроорганізмів. Живильне середовище, культивування мікроорганізмів. Методи дезінфекції»

Вивчається ГОСТ 26670-91. «Продукти харчові: Методи культивування мікроорганізмів». Далі студенти знайомляться з основним живильним середовищем і технікою його приготування. Отримують досвід культивування мікроорганізмів, методи отримання «чистої культури», зробивши самостійно посів на живильне середовище. Закріплюють теоретичний матеріал по основних біохімічних процесах, що відбуваються при зростанні мікроорганізмів на живильному середовищі. Вивчають основні методи дезінфекції, асептики, антисептики мікроорганізмів (пастеризація, тиндалізація, стерилізація). Беруть участь в опиті, під час практичної частки ставлять питання викладачеві, один одному.

Індивідуально аналізують, характеризують, пояснюють режими роботи термостата, захищають теоретичну частину теми заняття і зроблений посів мікроорганізмів на живильне середовище.

## **Лабораторна робота 3**

**Тема:** «Визначення загального мікробного числа, бактерій БГКП, стрептокока, що зеленить, і гемолітичного, гемолітичного стафілокока»

По темі завдання, кожна група докладає про підготовку персоналу до роботи. Потім відповідно до завдання, виданого кожній команді, проводиться від-

бір проб методом змивів: з рук персоналу, на робочому місці, з устаткування (ділянки обмежують рамкою трафарету площею 100×100 см), предметів ужитку, дрібного інвентарю, спецодягу – після підготовки цих предметів до роботи. Змиви беруться також і з використаних предметів, з порожнини рота і носоглотки персоналу (епідеміологічні свідчення). Кожна з груп проводить посів узятих змивів на живильне середовище для визначення загального числа бактерій з інкубацією в термостаті і пересіванням на диференціальне середовище з метою дослідження на БГКП (бактерії групи кишкової палички), на виявлення стрептокока, що зеленить, і гемолітичного, гемолітичного стафілокока. З підозрілих колоній робляться мазки і мікроскопуються. Кожна група готує письмовий звіт з необхідними розрахунками, схемами, таблицями і рисунками. Звіт захищають індивідуально.

## **Лабораторна робота 4**

**Тема:** «Санітарно-бактеріологічне (мікробіологічне) дослідження об'єктів навколишнього середовища і виробництва»

Розбираються Санітарні правила і норми (СанПіН до якості води централізованих систем водопостачання, якості повітря) харчових виробництв.

Відповідно до отриманого завдання, кожна група проводить відбір проб води і повітря виробничих приміщень, найбільш забруднених місць, місць відпочинку персоналу, туалетних кімнат. Посів води проводять в нерозведеному і розведеному вигляді, інкубують і підраховують число колоній, що виросли, для визначення загального мікробного числа. Потім робляться дослідження для виявлення БГКП титраційним методом на активність ферменту-оксидази.

Друга частина завдання – провести посіви повітря виробничих і підсобних приміщень седиментаційним і аспіраційним методом з подальшою оцінкою результату. Кожна бригада готує письмовий звіт з необхідними розрахунками, схемами, таблицями і рисунками. Звіт захищають індивідуально.

## **Лабораторна робота 5**

**Тема:** «Методи визначення КСО (кількість створюючих одиниць) і БГКП (бактерії групи кишкової палички) харчових продуктів тваринного походження – м'ясних, молочних, рибних, яєць»

Розбирається мета виробництва дослідження холодних і гарячих блюд. Дослідження холодних блюд проводяться для визначення загальної кількості мікроорганізмів, титру БГКП – з метою встановлення вторинного обсіменіння в процесі приготування або реалізації цих блюд. Дослідження гарячих блюд проводяться для визначення решткової мікрофлори з метою перевірки ефективності термічної обробки і вторинного осіменіння в процесі реалізації. Розбираються правила, методика складання акту відбору проб харчових продуктів, вибору

розведення і підрахунку колоній.

Відповідно до отриманого завдання, кожна група робить мазки і підраховує результати зростання колоній у наступних випадках:

1. Продукту, що має норматив на відсутність БГКП в певній масі продукту.
2. Продукту, який повинен містити порівняно низькі кількості БГКП – не більше 10 (НВЧ – найбільш вірогідного числа).
3. Продукту, на який існує відповідний ГОСТ, що передбачає норматив по колі-титру.
4. Ставиться завдання з'ясувати значний ступінь забруднення продукту БГКП.

Кожна група готує посіви, мазки, забарвлені по Граму і мікроскопує продукти відповідно до завдання, потім складає письмовий звіт з необхідними розрахунками, схемами, таблицями і рисунками. Звіт захищають індивідуально.

## **Лабораторна робота 6**

**Тема:** «Методи визначення КСО (кількість створюючих одиниць) і БГКП (бактерії групи кишкової палички) харчових продуктів рослинного походження (фрукти і овочі, зерно, мука, крупа, кондитерські, хлібобулочні вироби, вино, пиво)

Відповідно до отриманого завдання, кожна група для посіву використовує ту кількість продукту, в якій у відповідній НТД передбачається відсутність БГКП. Продукти рідкої консистенції засіваються в середовище або Кеслера, або КОДУ в співвідношенні 1:10. Продукти щільної консистенції готуються до посіву методом визначення кількості мезофільних мікроорганізмів аеробів і факультативно анаеробних в 1 г (мл) продукту. Посіви інкубуються в термостаті, за відсутності ознак зростання (газоутворення або помутніння середовища) дають висновок про відповідність продукту нормативу. При зростанні на середовищі КОДУ відразу дають висновок про невідповідність продукту нормативу БГКП. При зростанні на середовищі Кеслера роблять пересівання на середовище Ендо. Кожна група готує посіви, мазки, забарвлені по Граму, і мікроскопує продукти відповідно до завдання, потім складає письмовий звіт з необхідними розрахунками, схемами, таблицями і рисунками. Звіт захищають індивідуально.

## **Лабораторна робота 7**

**Тема:** «Методи визначення решткової мікрофлори в консервах тваринного і рослинного походження після їх стерилізації для визначення загального бактерійного осіменіння мікроорганізмами аеробів, наявності анаеробних мікробів, термофільних бактерій, збудників ботулізму»

Схема дослідження здійснюється в три етапи. Вивчається ГОСТ 26669-85. «Підготовка проб для мікробіологічних аналізів», ГОСТ 10444.1-84. «Консерви: Приготування розчинів реактивів, фарб, індикаторів і живильного середовища, вживаних в мікробіологічному аналізі»,

## **I. Етап**

1. Перевірка банок на герметичність і бомбаж
2. Розтин банок
3. Відбір баночних проб

Відповідно до отриманого завдання, кожна група відбирає проби. Зразки консервів миють теплою водою і висушують. Перевірка на герметичність: кожну відібрану банку поміщають у воду, нагріту до 85°C на 5-7 хвилин.

Перевірка на бомбаж (заздалегідь, на попередній лабораторній роботі): витримка в термостаті при 37°C 5-7 днів.

Методика розтину банок:

- струшування;
- протрава спиртом;
- випалення місця розтину.

Правила узяття проб:

- для виявлення культур аеробів проба повинна містити 1 г;
- для виявлення анаеробних культур – 5 г;
- проба повинна містити тверду і рідку частини.

## **II. Етап**

Для виявлення аеробів посів проводиться в МПБ і сольовому живильному бульйоні (для виявлення стафілококів).

Для виявлення анаеробів посів проводиться на середовище Кітт-Тароці (МППБ).

Посіви кожної проби проводять в 2 пробірки. Інкубація при 37°C протягом 5 діб.

## **Лабораторна робота 8**

**Тема:** «Методи визначення решткової мікрофлори в консервах тваринного і рослинного походження після їх стерилізації для визначення загального бактерійного осіменіння мікроорганізмами аеробів, наявності анаеробних мікробів, термофільних бактерій, збудників ботулізму»

Для виявлення анаеробних мікроорганізмів проглядають посіви на середовищі Кітт-Тароці (МППБ), відзначаючи помутніння, газоутворення. Потім забарвлюють (способи – див. нижче) і мікроскопують. Виявлені – Гр+ спороносні бактерії – бацили ботулізму.

Для виявлення мікроорганізмів аеробів кожна група починає заняття з обліку результатів посіву – проглядає посіви проб на МПБ і сольовий бульйон, і при цьому:

- а) відзначає характер зростання (плівка, помутніння, осад і ін.);
- б) проводить забарвлення за Грамом і забарвлення спор за способом Ціль-Нільсона, Пешкова, Златогорова, за Шефер – Фултоном;
- в) мікроскопує мазки.

### **III. Етап**

Якщо в мазках виявляють Гр- і Гр+ коки, то проводять висів на диференціально-діагностичне середовище:

- середовище Ендо (для виявлення кишкової палички) – в термостат при 37°C на 18-24 години;
- скошений агар (для виявлення протей) – в термостат при 37°C на 18-24 години;
- кров'яний агар (для виявлення гемолітичних стафілококів) – в термостат при 37°C на 48 годин.

Для остаточного висновку про якість консервів необхідно кожній групі вивчити характер зростання, приготувати мазки з вивчених колоній і мікроскопувати. Мікрокартину зарисовують і протоколюють. Потім складається письмовий звіт з необхідними розрахунками, схемами, таблицями і рисунками. Звіт захищається індивідуально.

## Будова мікроскопу

Біологічний мікроскоп – це оптичний прилад, за допомогою якого можна отримати збільшене оборотне зображення об'єкта, що вивчається, і розглянути дрібні деталі його будови, розміри яких лежать далеко за межами роздільної здатності ока. Будова й експлуатація оптичного мікроскопа досить прості. Проте невміле або неуважне користування цим приладом спричиняє за собою його псування. Тому необхідно добре засвоїти, з яких частин складається мікроскоп і їх призначення. Слід строго дотримуватися правил роботи з мікроскопом.

У навчальних, а також у біологічних і медичних лабораторіях широко використовують *мікроскоп біологічний робочий – МБР-1* (рис. А1а). Він дає збільшення від 56 до 1350 разів.

У мікроскопі виділяють дві системи: *оптичну й механічну*. До *оптичної системи* відносять об'єктиви, окуляр і освітлювальний пристрій.

*Об'єктив* – одна з найважливіших частин мікроскопа, оскільки визначає корисне збільшення об'єкта. Об'єктив складається з металевого циліндра з вмонтованими в нього лінзами. Ступінь збільшення знаходиться в прямій залежності від числа лінз. Об'єктив з великим збільшенням має 8-10 лінз. Першу лінзу, звернену до препарату, називають *фронтальною*. У верхній частині об'єктиву є гвинтова нарізка, за допомогою якої його угвинчують у гніздо револьвера. Збільшення об'єктиву позначене на ньому цифрами. Мікроскоп МБР-1 забезпечений трьома об'єктивами:  $\times 8$ ,  $\times 40$ ,  $\times 90$ . В учбових цілях використовують зазвичай об'єктиви  $\times 8$  і  $\times 40$ . Якість об'єктиву визначає його *роздільна здатність*.

Що ж таке роздільна здатність? Неозброєним оком людина може розрізнити дуже близько лежачі дві лінії або дві точки лише в тому випадку, якщо відстань між ними буде не менше 0,15 мм (150 мкм). Якщо ж ця відстань буде менша, то дві лінії або дві точки зливаються в одну. Таким чином, роздільна здатність ока людини дорівнює 150 мкм. Природно, чим більша роздільна здатність об'єктиву, тим більше виявляють подробиць будови спостережуваного об'єкта. Для об'єктиву  $\times 8$  роздільна здатність рівна 1,68 мкм, для об'єктиву  $\times 40$  – 0,52 мкм, для об'єктиву  $\times 90$  – 0,27 мкм. Дані, що визначають роздільну здатність, позначені на об'єктивах. Зверніть увагу на діаметри фронтальних лінз різних об'єктивів – чим менше діаметр фронтальної лінзи, тим більше його роздільна здатність.

Слід завжди пам'ятати про необхідність дбайливого поводження з об'єктивами. Особливої акуратності вимагає робота з об'єктивами великого збільшення, оскільки в них *робоча відстань*, тобто відстань від покривного скла до фронтальної лінзи, вимірюється десятими долями міліметра. Робоча відстань при об'єктиві  $\times 8$  дорівнює 13,8 мм, при об'єктиві  $\times 40$  – 0,6 мм, при об'єктиві  $\times 90$  – 0,12 мм. Об'єктив малого збільшення має максимальну робочу відстань і найбільше поле зору.

Якість зображення, особливо при об'єктивах великого збільшення, залежить також від товщини предметного і покривного стекл. Нормальна товщина предметного скла 1,2 мм, покривного – 0,17 мм.

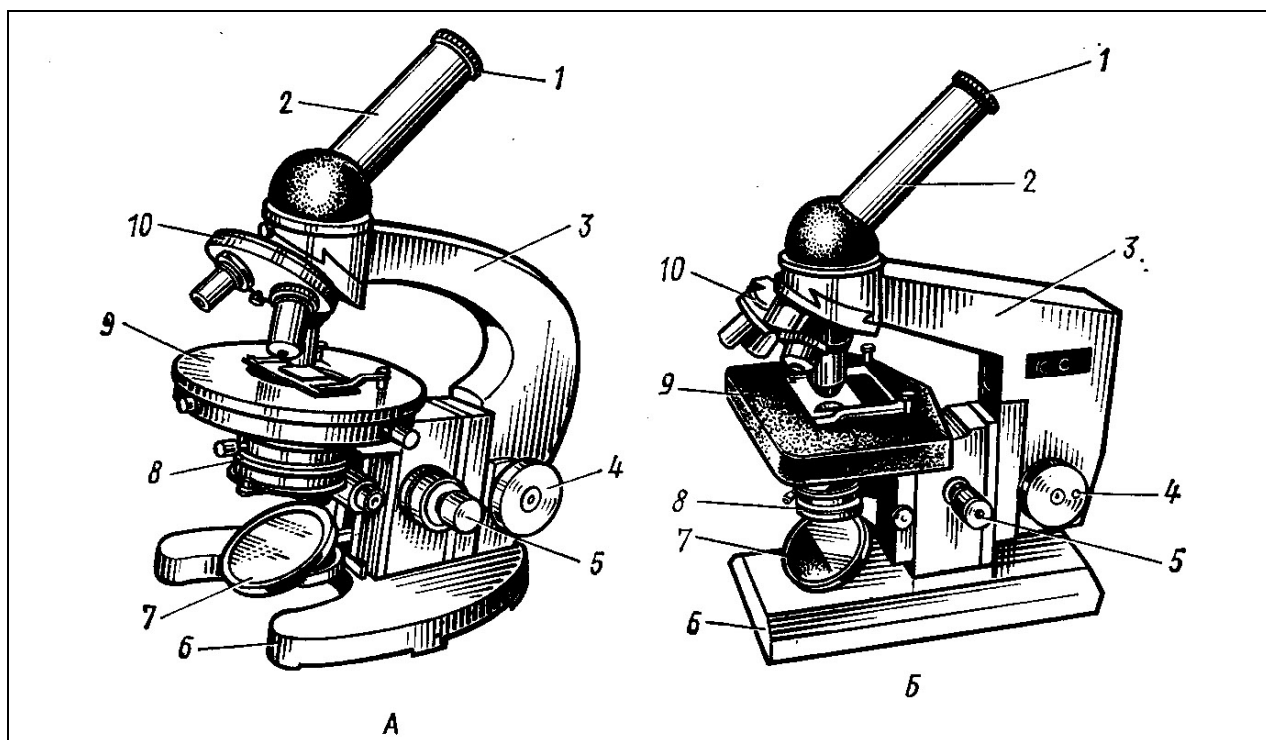


Рис. А1 – Оптичні мікроскопи. А – МБР-1; Б – Біолам:

1 – окуляр, 2 – тубус, 3 – кронштейн, 4 – гвинт грубого наведення, 5 – мікрометричний гвинт, 6 – підставка, 7 – дзеркало, 8 – конденсор і ірисова діафрагма, 9 – предметний столик, 10 – револьвер з об'єктивами

*Окуляр* побудований набагато простіше за об'єктив. Він складається з 2-3 лінз, вмонтованих в металевий циліндр. Збільшення окуляра позначене на них цифрами:  $\times 7$ ,  $\times 15$ . Для визначення загального збільшення мікроскопа слід помножити збільшення об'єктиву на збільшення окуляра.

*Освітлювальний пристрій* складається з дзеркала і конденсора з ірисовою діафрагмою, розташованих під предметним столиком. Воно призначене для освітлення об'єкта пучком світла.

*Дзеркало* служить для напрямку світла через конденсор і отвір предметного столика на об'єкт. Воно має дві поверхні: плоску і увігнуту. В учбових лабораторіях з розсіяним світлом зазвичай використовують увігнуте дзеркало. Дзеркало закріплене на штативі так, що воно може обертатися в двох взаємно перпендикулярних площинах.

*Конденсор* складається з 2-3 лінз, вставлених в металевий циліндр. При підйомі або опусканні його за допомогою спеціального гвинта відповідно конденсується або розсіюється світло, що падає від дзеркала на об'єкт.

*Ірисова діафрагма* розташована між дзеркалом і конденсором. Вона служить для зміни діаметру світлового потоку, що направляється дзеркалом через конденсор на об'єкт, відповідно до діаметру фронтальної лінзи об'єктиву, і складається з тонких металевих пластинок. За допомогою невеличкого важеля їх можна то з'єднати, повністю закриваючи нижню лінзу конденсора, то розвести, збільшуючи потік світла.

*Кільце з матовим склом або світлофільтром* зменшує освітленість

об'єкта. Воно розташоване під діафрагмою і пересувається в горизонтальній площині.

*Механічна система* мікроскопа складається з підставки, коробки з мікрометричним механізмом і мікрометричним гвинтом, кронштейну, гвинта грубого наведення, кронштейну конденсора, гвинта переміщення конденсора, револьвера, предметного столика.

*Підставка* – основа мікроскопа.

*Коробка з мікрометричним механізмом*, побудованим на принципі взаємодіючих шестерень, прикріплена до підставки нерухомо. *Мікрометричний гвинт* служить для незначного переміщення кронштейну, а отже, й об'єктиву на відстані, вимірювані мікрометрами. Повний оборот мікрометричного гвинта пересуває кронштейн на 100 мкм, а поворот на одне ділення опускає або піднімає кронштейн на 2 мкм. Щоб уникнути псування мікрометричного механізму дозволяється крутити мікрометричний гвинт в один бік не більше ніж *на половину обороту*.

*Тубус*, або *труба*, – циліндр, в який зверху вставляють окуляр. Тубус рухомо з'єднаний з головкою кронштейну, його фіксують стопорним гвинтом в певному положенні. Ослабивши стопорний гвинт, тубус можна зняти.

*Револьвер* призначений для швидкої зміни об'єтивів, які угвинчені в його гнізда. Центроване положення об'єктиву забезпечує клямка, розташована у середині револьвера.

*Кронштейн* несе тубус і револьвер. У сучасних мікроскопах з нахиленим тубусом кронштейн рухомо з'єднаний з коробкою мікрометричного механізму за допомогою рейки з гребінчастою нарізкою і зубчастого колеса, що обертається рукояткою, так званим гвинтом грубого наведення.

*Гвинт грубого наведення* використовують для значного переміщення кронштейну, а отже – й об'єктиву з метою фокусування об'єкта при малому збільшенні.

*Предметний столик* призначений для розташування на ньому препарату. В середині столика є круглий отвір, в який входить фронтальна лінза конденсора. У МБР-1 предметний столик округлий. На ньому лежить рухомий диск. Його можна обертати навколо осі і пересувати у двох взаємно перпендикулярних напрямках за допомогою двох гвинтів, розташованих з обох боків столика. Ці пересування дозволяють центрувати потрібне місце об'єкта, що особливо важливо, коли працюють з об'єктивом великого збільшення. За допомогою стопорного гвинта диск можна зафіксувати в певному положенні. На столику є дві пружинячі клеми – затиски, що закріплюють препарат.

*Кронштейн конденсора* рухомо приєднаний до коробки мікрометричного механізму. Його можна підняти або опустити за допомогою гвинта, що обертає зубчасте колесо, яке входить в пази рейки з гребінчастою нарізкою.

### **Правила роботи з мікроскопом**

При роботі з мікроскопом дотримуються наступних правил і послідовності операцій:

1. Ставлять мікроскоп біля краю столу так, щоб окуляр знаходився



проти лівого ока<sup>1</sup>, і протягом роботи його не пересувають. Зошит всі предмети, необхідні для роботи, розташовують праворуч від мікроскопа.

2. Ставлять об'єктив  $\times 8$  у робоче положення – на відстань 1 см від предметного столика. Роботу з мікроскопом починають з малого збільшення.

3. Дивлячись лівим оком в окуляр і користуючись увігнутих дзеркалом, направляють світло від вікна (але не пряме сонячне!) або електричної лампи (якщо вона не матова, то в кільце під конденсором вкладають матове скло) в об'єктив і максимально і рівномірно освітлюють поле зору. Праве око залишають відкритим, оскільки при закритому правому оці все навантаження приходить на ліве око, а це може викликати перевтому очних м'язів.

4. Кладуть препарат на предметний столик (об'єкт, що вивчається, повинен знаходитися під об'єктивом) і, дивлячись збоку, опускають об'єктив за допомогою гвинта грубого наведення так, щоб між фронтальною лінзою об'єктиву і препаратом була відстань 4-5 мм.

5. Дивлячись лівим оком в окуляр і *обертаючи гвинт грубого наведення на себе*, плавно піднімають об'єктив до положення, при якому добре видно зображення об'єкта. Пересуваючи препарат рукою, знаходять потрібне місце об'єкта, розташовують його в центрі поля зору і закріплюють препарат клемми. Якщо зображення не з'явилося («проскочило»), то *треба повторити всі операції* пунктів 5 і 6 спочатку. *Не можна дивитися в окуляр і опускати об'єктив, обертаючи гвинт грубого наведення від себе*, оскільки при цьому фронтальна лінза може роздавити покривне скло і на ній з'являться подряпини.

6. Для вивчення будь-якої ділянки об'єкта при великому збільшенні ставлять цю ділянку в центр поля зору, *пересуваючи препарат рукою*. Після цього повертають револьвер так, щоб об'єктив  $\times 40$  зайняв робоче положення (*об'єктив не піднімати!*). Далі – дивляться в окуляр, при цьому зображення об'єкта буде нечітким. За допомогою макрометричного гвинта добиваються попередньої якісної видимості зображення об'єкта. Слід пам'ятати, що мікрометричний гвинт можна обертати в один бік *не більше ніж на пів-оберта*.

7. Після закінчення роботи з великим збільшенням повертають револьвер, встановлюють мале збільшення і знімають препарат. *Не можна виймати препарат з-під об'єктиву  $\times 40$* , оскільки робоча відстань його рівні 0,6 мм, і легко можна зіпсувати фронтальну лінзу.

8. Працюють з мікроскопом сидячи. Висота стільця повинна бути такою, щоб можна було дивитися в окуляр, не згинаючись і не витягуючись.

<sup>1</sup> Для тих, у кого домінує ліва рука (шульги), – сторони, вказані в цьому пункті, слід змінити на протилежні

## Дослідження морфології бактерій

Морфологічні особливості бактерій – у зв'язку з їх малими розмірами, і здатністю деяких із них рухатися – зручніше вивчати в забарвлених препаратах. Дослідження мікробів в забарвленому вигляді дає можливість при правильному приготуванні препаратів отримувати чіткі, контрастні зображення об'єктів спостереження.

Для забарвлення мікробів застосовують анілінові фарби, переважно основні, рідше – кислі. Вони мають вид порошків або кристалів, з яких готують спиртові, спиртово-водні і водні розчини фарб.

Спиртові, або насичені, розчини фарб готують шляхом розчинення в спирті 10-15% сухої фарби (10-15 г фарби на 100 мл 96 %-го розчину спирту). Розчин залишають на кілька днів, і за цей час кілька разів струшують. Рідку частку фарби зливають в склянку, і в міру необхідності використовують для приготування спиртово-водних розчинів. Останні готують розведенням спиртових розчинів дистильованою водою. Щоб підсилити фарбувальну здатність, до розчинів фарб додають луги, фенол, танін та ін. Найбільш споживаними розчинами фарб є наступні.

**Карболовий фуксин.** 1 г основного фуксина розтирають в ступці з 5 г карболової кислоти, додаючи порціями 10 мл етилового спирту і 100 мл дистильованої води. Розчин протягом 2 діб відстоюють і фільтрують через фільтрувальний папір.

**Розведений карболовий фуксин.** Готують карболовий фуксин розведенням його дистильованою водою в співвідношенні 1:10.

**Карболовий генціанвіолет.** Готують аналогічно карболовому фуксину.

**Водні розчини метиленової сині, кристалвіолету, метилвіолету** готують розчиненням 1 г фарби в 300 мл дистильованої води.

Після приготування фарби фільтрують через фільтрувальний папір і зберігають в темному місці. Для роботи фарби розливають у флакони з піпетками або в крапельниці з притертими пробками.

**Приготування забарвленого препарату.** Процес приготування складається з приготування мазка, висушування, фіксації і забарвлення (рис. Б1).

Готують мазок таким чином. На середину чистого предметного скла, заздалегідь знежиреного прожаренням або будь-яким іншим способом, охолодженого до кімнатної температури, поміщають краплю води, бактеріологічною петлею вносять до неї невелику кількість мікроорганізмів і ретельно перемішують, розподіляючи культуру тонким шаром на предметному склі (бактеріологічна петля є ніхромовим дротом, вмонтованим в ручку). Мазок підсушують у повітрі. Для цього предметне скло беруть за куточки великим і вказівним пальцями і повільно проводять його над полум'ям пальника або спиртівки 3-4 рази, тримаючи стороною з нанесеним матеріалом вгору. Тривала фіксація може змінити структуру клітин і їхню форму; недостатня фіксація приведе при подальшій обробці мазка до його змивання з поверхні скла. Фіксація повинна

забезпечити краще закріплення мікробних клітин на склі, убити мікроорганізми (мертві клітини краще забарвлюються, чим живі).

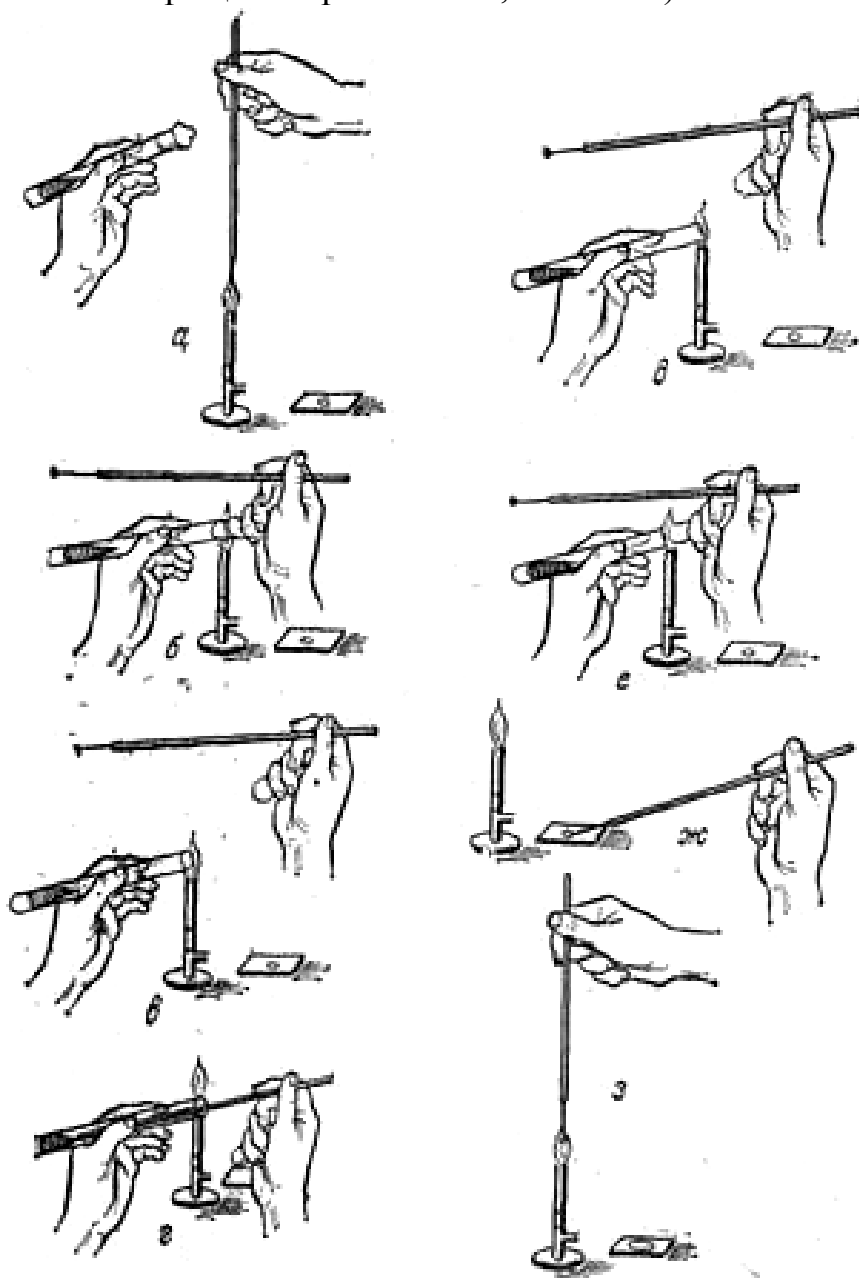


Рис. Б1 – Послідовність операцій при підготовці мазка

Якщо досліджувані мікроорганізми знаходяться в рідкому середовищі, то на предметне скло наносять краплю мікробної суспензії без додавання води або іншої рідини. Суспензію беруть скляною паличкою або бактеріологічною петлею.

Забарвлення мазка здійснюють таким чином. На охолоджений фіксований мазок наносять 2-3 краплі фарбника. Через 40-60 секунд змивають його слабким струменем води з промивалки, поки вода не стане прозорою. Промитий мазок висушують або на повітрі, або промокають його фільтрувальним папером.

На сухий препарат наносять краплю імерсійного масла і мікроскопують з об'єктивом 90×. При складних способах забарвлення застосовують дві фарбувальні речовини і більш.

Забарвлення бактерій за методом Грама має велике значення для розпі-

знавання бактерій і віднесення до однієї з груп: грампозитивним (що забарвлюються за Грамом) або грамнегативним (що не забарвлюються по Граму).

Суть методу полягає в тому, що складні сполуки фарбника з йодом і білками цитоплазми, які утворюються при фарбуванні клітин у грампозитивних бактерій, утримуються при подальшій обробці препарату спиртом і клітини зберігаються забарвленими, а у грамнегативних – обезбарвлюються. Тут, мабуть, грає роль і неоднакова проникність клітинної оболонки і мембрани цитоплазми для комплексу «фарбник – йод» у зв'язку з відмінністю хімічного складу і структури цих оболонок у різних бактерій. Можливо, що різне відношення до забарвлення за Грамом пов'язане з наявністю в цитоплазмі грампозитивних бактерій значної кількості магнієвої солі рибонуклеїнової кислоти, яка утворює з генціанвіолетом і йодом нерозчинний в спирті комплекс.

**Техніка забарвлення за Грамом.** Полягає вона в наступному. На фіксований мазок наносять 2-3 краплі розчину генціанвіолету, і через 2-3 хвилини фарбування фарбу змивають водою. На препарат наносять 2-3 краплі розчину Люголя, і опісля 2-3 хвилин змивають водою. Препарат на 30-40 секунд занурюють в стаканчик з 96% розчином спирту і швидко промивають водою. Потім препарат протягом 1-2 хвилини дофарбовують розведеним фуксином, промивають водою і просушують фільтрувальним папером. Грампозитивні бактерії будуть фіолетовими, грамнегативні – червоними, оскільки, будучи знебарвлені спиртом, вони сприймають додаткове забарвлення фуксином.

При фарбуванні мазка за Грамом слід звернути увагу на процес обезбарвлення мазка спиртом. При недостатній обробці всі клітини зберігають забарвлення, при надлишковій – обезбарвлюються. Для контролю забарвлення на одному предметному склі слід зробити три мазки бактерій: один – свідомо грампозитивних бактерій, інший – свідомо грамнегативних, третій, – досліджуваних мікроорганізмів. Мікроскопують препарат з об'єктивом 90×

В процесі занять студентам необхідно промікроскопувати кілька заздалегідь приготованих забарвлених препаратів, наприклад стафілококів, сарцин, паличкоподібних безспорових і спорових бактерій та ін.; звернути увагу на форму клітин, характер їх взаємного розташування, наявність і місце розташування спор; виконати зарисовки; освоїти техніку мікроскопування.

## Дослідження морфології дріжджів

Для ознайомлення з зовнішнім виглядом, способами розмноження і будовою клітини дріжджів необхідно приготувати препарат «роздавлена крапля». Для цього на середину предметного скла наносять краплю з водної суспензії, обережно накривають її і «роздавлюють» покривним склом. Крапля повинна тонким шаром заповнити простір між покривним і предметним стеклами, але не виступати за краї покривного скла. Надлишок рідини, що виступила, видаляють фільтрувальним папером. Якщо рідини мало, її додають, підпускаючи скляною паличкою під покривне скло. Розглядають з об'єктивом 40×

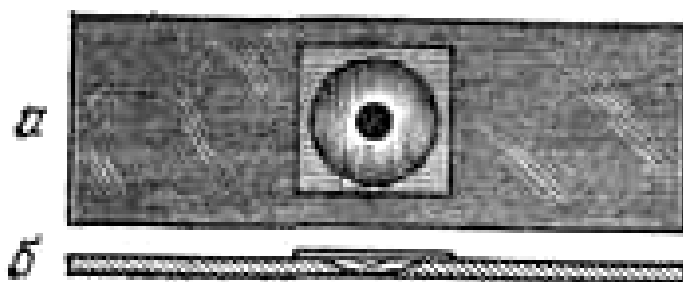


Рис. В1 – Препарат «висяча крапля»: а – вид з гори; б – вид збоку

Інколи готують препарат типа «висяча крапля» (рис. В1). Їм досліджують мікроби в живому вигляді – вивчають їх зростання, розвиток. Для цього на покривне скло наносять краплю рідини з досліджуваними мікроорганізмами. Покривне скло, краї якого заздалегідь змащують вазеліном, перевертають і накладають на предметне скло, що має в середині лунку, не торкаючись її країв або дна.

Дріжджами є одноклітинні нерухомі організми розміром в діаметрі 3-5 мкм, довжиною 10-15 мкм. Форма клітин дріжджів кругла, еліпсоїдна, овально-яйцевидна, циліндрова, лимоноподібна. У дріжджовій клітині можна розрізнити оболонку, цитоплазму, ядро, вакуолі, включення запасних живильних речовин у вигляді крапель жиру, зерен глікогену, гранул волютину. Біля деяких клітин можна спостерігати вакуолі, тобто порожнини, заповнені клітинним соком.

Розмноження дріжджів відбувається декількома способами: брунькуванням, діленням клітини і за допомогою спор.

Процес брунькування полягає в тому, що на клітині з'являється горбок (інколи декілька), який поступово збільшується в розмірах. Цей горбок називається брунькою. У міру зростання між нею і материнською клітиною утворюється перетяжка. Канал, що сполучає дочірню клітину, яка формується, із старою, материнською, поступово звужується, і врешті-решт, молода клітина відділяється. Цей процес за сприятливих умов триває близько двох годин.

Після завершення процесу брунькування молода клітина часто не відділяється від материнської. Клітини, що розмножуються брунькуванням, зазвичай утворюють не одну, а декілька бруньок. При цьому утворюються скупчення з багатьох сполучених між собою клітин, звані зростками брунькування.

Розмноження шляхом поділу клітин спостерігається у дріжджів, що мають циліндрову форму.

Розмноження спорами характерне для багатьох видів дріжджів. Спори утворюються усередині клітини і знаходяться в ній, як в сумці, що дозволяє відносити їх до сумчастих грибів (аскоміцетів). Число спор, що утворюються, в клітині різних видів дріжджів різне – від 2 до 12.

Необхідно розгледіти і зарисувати форму клітин, їхню будову, виявивши оболонку, цитоплазму, вакуолі і різні включення; знайти і зарисувати клітини, що розмножуються брунькуванням, і зростки брунькування, а у споротвірних дріжджів – клітини зі спорами. Роботу доцільно провести на прикладі трьох видів дріжджів – хлібних, круглих, споротвірних.

## Дослідження морфології цвілевих грибів

Тіло цвілевих грибів має великі лінійні розміри, а гіфи – відносно велику товщину. Тому їх мікроскопування не вимагає попереднього забарвлення препарату. Звичайне вивчення ведеться в препараті «роздавлена крапля».

На його приготування із заздалегідь вирощених в чашках Петрі на суслі-агарі чистих культур цвілевих грибів – мукора, пеніциліума, аспергілуса, альтер-нарії, оїдіума, фітофтори або інших – відбирають частину міцелію. Матеріал беруть двома стерильними препарувальними голками (стерилізують в полум'ї спиртівки в процесі роботи). Невелику кількість міцелію поміщають в краплю суміші спирту з гліцерином (5:1). Суміш використовують для заповнення простору між гіфами в препараті, з тим щоб уникнути розсіювання світла і отримати чітке зображення. Спирт володіє змочуючою здатністю по відношенню до гіфів грибів, що завжди мають на поверхні тонку жирову плівку. Узятий матеріал необхідно голками обережно розосередити тонким шаром і накласти покривне скло.

Міцелій слід брати в зоні, приграничній із зоною плодоношення (розділ між забарвленою і безбарвною частинами колоній гриба); мікроскопування вести з об'єктивом 8×. Підібравши місце, зручне для перегляду, перемістити його в центр поля зору і замінити об'єктив на 40×. Отримане в 400-600 разів збільшення забезпечує досить хорошу видимість.

При мікроскопуванні потрібно: виявити будову міцелію (одноклітинний або багатоклітинний) і органів розмноження – спорангіїносців із спорангіями або конідіїносців з конідіями. Необхідно також розгледіти форму, особливості будови спор, конідій, оїдій.

Зарисувати специфічні особливості грибів, що розгледіли.

Представляє інтерес проглядання грибів безпосередньо в чашках Петрі з малим збільшенням, наприклад 8×10; 8×15. При яскравому освітленні добре видно точки зростання гіф, спільна картина їх розташування, органи плодоношення, спори, конідії.

НАВЧАЛЬНЕ ВИДАННЯ

**МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ**

до проведення лабораторних і практичних занять  
з дисципліни

**« М І К Р О Б І О Л О Г І Я »**

(для студентів 1 - 2 курсів денної та заочної форм навчання освітньо-  
кваліфікаційного рівня бакалавр напрямку підготовки  
6.140101 «Готельно-ресторанна справа»)

Укладач **ШАТРОВСЬКИЙ** Олександр Георгійович

Відповідальний за випуск К. Б. Сорокіна

За авторською редакцією  
Комп'ютерне верстання *О. Г. Шатровський*

План 2011, поз. 672 М

---

Підп. до друку 26.12.2011  
Друк на ризографі  
Зам. №

Формат 60×84/16  
Ум. друк. арк. 1,4  
Тираж 50 пр.

Видавець і виготовлювач:  
Харківська національна академія міського господарства,  
вул. Революції, 12, Харків, 61002  
Електронна адреса: rectorat@ksame.kharkov.ua  
Свідоцтво суб'єкта видавничої справи:  
ДК №4064 від 12.05.2011 р.